Système de test ZEUS RF IgM Plus

RÉF A91101M

IVD

CE

UTILISATION PRÉVUE

Le système de test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte®** RF IgM Plus a été conçu pour la détection qualitative et/ou quantitative d'anticorps IgM du facteur rhumatoïde (FR) (RF IgM en anglais). Ce système de test a pour but d'aider à diagnostiquer la polyarthrite rhumatoïde. Ce test a été conçu uniquement pour des diagnostics *in vitro*.

SIGNIFICATION ET CONTEXTE

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est une maladie inflammatoire chronique des articulations, généralement progressive. La polyarthrite rhumatoïde est une affection au développement très variable pouvant aller d'une maladie légère et courte à une polyarthrite progressive et destructrice associée à une vasculite systémique (1). Il a été récemment estimé que la maladie affecte entre 1 % et 2 % de la population générale (2) et qu'elle survient deux fois plus chez les femmes que chez les hommes (1).

À ses débuts, la maladie se manifeste par les symptômes suivants : lymphadénopathie, anorexie, faiblesse, fatigue et raideurs matinales ou douleurs généralisées (1, 3). La polyarthrite rhumatoïde est associée à plusieurs attributs mesurables en laboratoire (4). Les observations de laboratoire les plus fréquemment associées à la polyarthrite rhumatoïde sont le facteur rhumatoïde (FR), les anticorps antinucléaires (AAN), les complexes immunes et les niveaux de compléments caractéristiques (3). La mesure du taux d'anticorps IgM du FR dans le sérum joue un rôle important pour le diagnostic de la polyarthrite rhumatoïde. Cette mesure a aussi été récemment intégrée au pronostic de la maladie (6).

Les IgM du facteur rhumatoïde appartiennent à un groupe d'immunoglobulines typiquement définies comme anticorps réagissant au fragment cristallisable des molécules d'immunoglobuline (IgG) d'origine humaine (et certaines espèces animales) (1, 4). Le facteur rhumatoïde est un anticorps polyclonal, réagissant à une grande variété de déterminants de la molécule IgG (4). Le facteur rhumatoïde est associé à trois grandes classes d'immunoglobulines : IgM, IgG et IgA. Cependant, des FR IgE ont également été décrits (5). Les FR IgM et les FR IgG sont les plus répandus (1). Les FR IgM sont d'ailleurs présents chez 75 % des patients ayant reçu un diagnostic de polyarthrite rhumatoïde (4). Les facteurs rhumatoïdes ont également été associés à certaines infections bactériennes et virales (p. ex., hépatite et mononucléose infectieuse), ainsi qu'à des infections chroniques (p. ex., tuberculose, parasitose, endocardite maligne lente et cancer) (1). En outre, des niveaux élevés de facteurs rhumatoïdes ont été observés chez 15 % des personnes de 65 ans et plus (4).

PRINCIPE DU TEST

Le système de test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus a été conçu pour la détection de facteurs rhumatoïdes de classe IgM dans un échantillon de sérum sanguin humain. La procédure comprend deux étapes d'incubation :

1. Les échantillons de sérum à tester (correctement dilués) sont incubés dans un tube contenant un mélange de billes en suspension pour test multiplex. La suspension de billes contient un mélange de populations marquées de microsphères en polystyrène (billes) ; chaque population est associée à un antigène différent. S'ils sont présents dans le sérum du patient, les FR IgM se lieront à l'antigène fixé sur une ou plusieurs populations de billes. Les microsphères sont ensuite rincées pour éliminer les protéines sériques non-réactives.
2. Une solution d'IgM anti-humaine d'origine caprine conjuguée à de la phycoérythrine (PE) est ajoutée au micro-puits et la plaque est de nouveau incubée. Le conjugué va réagir avec les anticorps IgM fixés sur la phase solide au cours de l'étape 1. La suspension de billes est alors analysée par l'instrument **AtheNA Multi-Lyte**. La ou les population(s) de billes est/sont triée(s) (identifiée(s)) et l'on détermine pour chaque population de billes la quantité de molécules indicatrices (conjugué PE). À l'aide de la technologie d'étalonnage intra-puits (*Intra-Well Calibration Technology®*), les populations de billes d'étalonnage internes sont utilisées pour convertir la fluorescence brute en résultats numériques.

COMPOSANTS DU SYSTÈME DE TEST

Matériel inclus :

Chaque système de test contient les composants suivants en quantité suffisante pour réaliser le nombre de tests indiqué sur l'étiquette du conditionnement. **REMARQUE : Les composants suivants contiennent de l'azoture de sodium comme agent de conservation sous une concentration inférieure à 0,1 % (volume d'eau) : suspension de billes, contrôles, conjugué et SAVe Diluent®.**

SOLN	BEAD

1. Suspension de billes : La suspension contient des microsphères en polystyrène de 5,6 microns marquées, conjuguées à des IgG humaines purifiées par affinité. La suspension de billes contient également une population de billes pour la détection d'anticorps non spécifiques (s'il y en a) dans l'échantillon du patient et quatre populations de billes utilisées pour l'étalonnage de l'essai. Un flacon couleur ambre contenant 5,5 ml. Prêt à l'emploi.

CONJ

2. Conjugué : IgM d'origine caprine antihumain conjugué à de la phycoérythrine (chaîne μ spécifique). Un flacon couleur ambre contenant 15 ml. Prêt à l'emploi.

CONTROL	+

3. Contrôle positif (sérum humain) : Une ampoule de 0,2 ml avec bouchon rouge.

CONTROL	-

4. Contrôle négatif (sérum humain) : Une ampoule de 0,2 ml avec bouchon vert.

DIL	SPE

5. SAVe Diluent® : Un flacon de 50 ml à bouchon vert contenant une solution de tampon phosphate salin. Prêt à l'emploi. **REMARQUE :** La solution SAVe Diluent® change de couleur lorsqu'elle est combinée à du sérum.

WASHBUF	10X

6. Tampon de lavage concentré (10 x) : Dilution d'un volume de concentré dans neuf volumes d'eau distillée ou désionisée. Un flacon de 50 ml à bouchon transparent contenant une solution de tampon phosphate salin concentrée 10X.

REMARQUES :

1. **Les composants suivants ne doivent pas nécessairement être utilisés avec des systèmes de test ayant un numéro de lot correspondant et peuvent donc être librement utilisés avec des systèmes de test ZEUS AtheNA Multi-Lyte : tampon de lavage et SAVe Diluent®.**
2. **Le système de test contient également :**
   a. **une étiquette de composant contenant des informations spécifiques de lot à l'intérieur de la boîte du système de test.**
   b. **un CD d'étalonnage contenant des valeurs d'étalonnage spécifiques par lot, requises pour les analyses d'échantillons et le contrôle de qualité des essais, et des notices.**
   c. **une plaque de dilution de 96 puits.**
   d. **une plaque de filtration de 96 puits.**

PRÉCAUTIONS

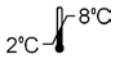
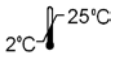
1. Pour utilisation diagnostique *in vitro* uniquement.
2. Observer les précautions normalement applicables lors de toute manipulation de réactif de laboratoire. En cas de contact oculaire, rincer immédiatement les yeux avec beaucoup d'eau et consulter un médecin. Porter des vêtements protecteurs appropriés, ainsi que des gants et une protection des yeux/du visage. Ne pas respirer les vapeurs de ce produit. Jeter conformément à toutes les lois applicables.
3. La suspension de billes du test **AtheNA Multi-Lyte** ne contient pas d'organismes vivants. Cependant, le réactif doit être considéré comme un **matériau biologique dangereux** et être manipulé comme tel.

4. Les solutions de contrôle sont des **matériaux biologiques dangereux**. Les matériaux d'origine de ces produits ont fait l'objet de tests approuvés n'ayant révélé aucune présence d'antigène du VIH-1, de HBsAg et d'anticorps contre le VHC et le VIH. Cependant, puisqu'aucune méthode de test n'offre une garantie absolue d'absence de tout agent infectieux, ces produits doivent être manipulés selon les consignes du niveau 2 de biosécurité, conformément aux recommandations applicables aux échantillons de sang et aux sérums humains potentiellement infectieux dans le manuel des centres américains de contrôle des maladies intitulé « Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories » (dernière édition) et conformément aux normes de l'OSHA concernant les agents pathogènes sanguins (9).
5. Pour obtenir des résultats exacts, il est essentiel de respecter les délais et les températures d'incubation. Vérifier que tous les réactifs sont équilibrés à température ambiante (20 à 25 °C) avant de commencer le test. Les réactifs non utilisés doivent être retournés à une température de réfrigération immédiatement après utilisation.
6. Un mauvais lavage peut causer de faux résultats positifs ou négatifs. S'assurer de minimiser la quantité de solution de lavage résiduelle (p. ex., par absorption ou aspiration) avant d'ajouter le conjugué. Ne pas laisser les puits sécher entre les incubations.
7. La solution SAVe Diluent®, la suspension de billes, les solutions de contrôle et le conjugué contiennent de l'azoture de sodium sous une concentration inférieure à 0,1 % (volume d'eau). Il a été signalé que l'azoture de sodium pouvait former des accumulations de plomb ou d'azoture de cuivre dans la tuyauterie de laboratoire, lesquelles peuvent causer des explosions ou des détonations. Pour éviter ce risque, rincer abondamment les éviers avec beaucoup d'eau après y avoir jeté une solution contenant de l'azoture de sodium.
8. Le tampon de lavage concentré est IRRITANT. Ce produit peut irriter les yeux, le système respiratoire et la peau.
9. La dilution et l'adultération de ces réactifs peuvent produire des résultats erronés.
10. Ne pas utiliser les réactifs d'autres fournisseurs ou fabricants.
11. Ne jamais pipeter à la bouche. Éviter tout contact de la peau ou des muqueuses avec des réactifs ou des échantillons humains.
12. Éviter toute contamination microbienne des réactifs. Des résultats incorrects pourraient survenir.
13. Toute contamination des réactifs ou des échantillons pourrait fausser les résultats.
14. Éviter les éclaboussures et la génération d'aérosols.
15. Ne pas exposer les réactifs à une lumière puissante durant leur stockage ou durant une incubation. La suspension de billes et le conjugué sont des réactifs photosensibles. Tous deux ont été conditionnés dans des emballages photoprotecteurs. Des niveaux normaux d'exposition à la lumière au cours de l'exécution de l'essai n'affecteront pas les performances de ce dernier. Ne pas exposer inutilement ces réactifs à des sources puissantes de lumière visible.
16. Récupérer la solution de lavage dans un bassin à résidus. Traiter la solution résiduelle avec un désinfectant (p. ex., 10 % de javel domestique à 0,5 % d'hypochlorite de sodium). Éviter d'exposer les réactifs aux vapeurs de javel.
17. Mise en garde : Avant d'ajouter une solution de javel, neutraliser les résidus liquides jusqu'à l'obtention d'un pH acide.
18. Ne pas laisser le conjugué entrer en contact avec des récipients ou des instruments pouvant avoir précédemment contenu une solution utilisant de l'azoture de sodium comme agent de conservation. Des quantités résiduelles d'azoture de sodium peuvent détruire l'activité enzymatique du conjugué.
19. Ne pas exposer les réactifs à des solutions contenant de la javel ni même aux odeurs fortes s'échappant d'une solution contenant de la javel. De très petites quantités de javel (hypochlorite de sodium) peuvent détruire l'activité biologique de plusieurs réactifs de ce système de test.

MATÉRIAUX NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS

1. Pipettes pouvant mesurer avec précision des quantités de 10 à 200 µl.
2. Pipette à canaux multiples pouvant mesurer avec précision des quantités de 10 à 200 µl.
3. Réservoirs de réactif pour pipettes à canaux multiples.
4. Pipettes sérologiques.
5. Embouts de pipettes jetables.
6. Serviettes en papier.
7. Minuterie de laboratoire pour mesurer les étapes d'incubation.
8. Bassin de résidus et de désinfectant (p. ex., 10 % de javel domestique à 0,5 % d'hypochlorite de sodium).
9. Système **AtheNA Multi-Lyte** (instrument Luminex®) avec fluide d'entraînement (produit n° 40-50000).
10. Eau distillée ou désionisée.
11. Vortex.
12. Petit bain de sonication.
13. Un agitateur de plaque pouvant atteindre la vitesse de 800 r/min (optionnel pour mélanger).
14. Système et embout d'aspiration pour le lavage des microsphères.

CONDITIONS DE STOCKAGE

	Suspension de billes : Retirer uniquement la quantité nécessaire pour analyser les échantillons devant être testés, puis restocker toute quantité non utilisée.
	Conjugué : NE PAS CONGELER.
	Système de test non ouvert, contrôle positif, contrôle négatif, solution SAVe Dilent®
	Tampon de lavage (1 x) : 20 - 25°C pendant un maximum de 7 jours; 2 à 8 °C pendant un maximum de 30 jours. Tampon de lavage (10 x) : 2 - 25°C

PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS

1. ZEUS Scientific recommande que l'utilisateur prélève les échantillons conformément au document M29 du CLI intitulé « *Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease* » (dernière édition).
2. Aucune méthode de test connue ne peut offrir une garantie totale qu'un échantillon de sang humain ne causera aucune transmission d'infection. Par conséquent, tous les dérivés d'échantillons sanguins doivent être considérés comme possiblement infectieux.
3. Utiliser uniquement du sérum sanguin fraîchement prélevé et correctement réfrigéré, obtenu selon la procédure de ponction veineuse aseptique de cette analyse. Ne pas utiliser si un anticoagulant ou un agent de conservation a été ajouté. Éviter d'utiliser du sérum sanguin hémolysé, lipémique ou exposé à des bactéries.
4. Les échantillons peuvent être conservés à température ambiante pendant un maximum de 8 heures. Si aucun test n'est effectué dans un délai de 8 heures, le sérum sanguin peut être stocké à 2 à 8 °C pendant un maximum de 48 heures. Si l'exécution du test est retardée, le sérum sanguin peut être stocké à -20 °C ou moins. Éviter les cycles multiples de gel/dégel pouvant causer une perte d'activité anticorps et produire des résultats erronés. Les laboratoires utilisateurs ont la responsabilité de consulter tous les documents de référence disponibles et/ou leurs propres études afin de déterminer les critères de stabilité appropriés pour leur laboratoire (10).

PROCÉDURE D'ESSAI

1. Sortir les composants de leur lieu de stockage et laisser les composants se réchauffer à température ambiante (20 à 25 °C).
2. Déterminer le nombre total de contrôles et d'échantillons à tester. Il est nécessaire d'inclure un contrôle négatif et positif avec chaque expérience. Le contrôle négatif devra être testé dans le puits A1, le contrôle positif dans le puits B1. Utiliser un puits pour chaque contrôle et chaque échantillon à doser.

a. Afin d'optimiser les temps de lecture, la suspension de billes doit être parfaitement mélangée juste avant son utilisation. Pour resuspendre efficacement les billes, il convient tout d'abord d'agiter la suspension de billes par vortex pendant environ 30 secondes puis d'effectuer une sonication pendant environ 30 secondes dans un bain de sonication léger.
b. Afin de garantir la réussite de l'essai, il est important que les composants soient minutieusement mélangés. Afin de garantir un mélange adapté des composants, il convient de mélanger la plaque par agitation pendant environ 30 secondes à 800 r/min environ ; ou bien de placer un pipetteur à environ la moitié du volume de la plaque puis d'aspirer et d'expulser (en pompant vers le haut et vers le bas) le contenu du puits ; répéter l'opération au moins 5 fois.

EXEMPLE DE CONFIGURATION DE PLAQUE		
	1	2
A	Contrôle négatif	etc.
B	Contrôle positif	
C	Patient 1	
D	Patient 2	
E	Patient 3	
F	Patient 4	
G	Patient 5	
H	Patient 6	

3. Préparer une dilution 1:21 (p. ex., 10 µl de sérum + 200 µl de SAVe Diluent®) de contrôle négatif, de contrôle positif et de sérum de chaque patient. **REMARQUE : La solution SAVe Diluent® changera de couleur pour confirmer que l'échantillon a été combiné avec le diluant.** Afin de garantir de bons résultats, il est important que les dilutions d'échantillons soient minutieusement mélangées, conformément à l'alinéa 2b ci-dessus.
4. Après avoir déterminé le nombre total de puits à doser, utiliser une pipette mutlicanaux ou une pipette à répétition pour délivrer 50 µl de billes en suspension dans chaque puits de la plaque de filtration.
5. Transférer 10 µl de chaque échantillon dilué (1:21) et contrôler en comparant la plaque de dilution à la plaque de filtration. Afin de garantir de bons résultats, il est important que les dilutions d'échantillons soient minutieusement mélangées, conformément à l'alinéa 2b ci-dessus.
6. Incuber la plaque à température ambiante (20 à 25 °C) pendant 30 ± 10 minutes.
7. Après l'incubation, rincer les billes par filtration sous vide à l'aide du tampon de lavage fourni dilué (concentration 1X).
   a. Placer la plaque de filtration sur le distributeur à vide et retirer la solution en laissant les billes.
   b. Arrêter l'aspiration et ajouter 200 µL de solution tampon de lavage diluée (1x).
   c. Créer le vide et retirer la solution.
   d. Répéter les étapes 7b et 7c jusqu'à un total de trois rinçages.
8. Après le dernier lavage, sécher délicatement le fond de la plaque de filtration et laisser sécher la plaque à l'air pendant 3 à 5 minutes avant de passer à l'étape suivante.
9. Ajouter 150 µl de conjugué dans chaque puits, à la même vitesse et dans le même ordre que les échantillons. Afin de garantir de bons résultats, il est important que le conjugué et la suspension de billes soient minutieusement mélangés, conformément à l'alinéa 2b ci-dessus. Il est possible, en option, pendant le mélange du conjugué, de transférer le mélange dans des puits vides d'une plaque de réaction en polystyrène.
10. Incuber la plaque à température ambiante (20 à 25 °C) pendant 30 ± 10 minutes.
11. Régler l'instrument **AtheNA Multi-Lyte** pour l'analyse des réactions en sélectionnant le calibre RF IgM Plus. Pour les détails concernant le fonctionnement de l'instrument **AtheNA Multi-Lyte,** consulter le manuel d'utilisation. Les résultats peuvent être lus à partir de la plaque de filtration ou de la plaque de réaction. **REMARQUE : Afin de garantir que les analyses d'échantillons soient correctement effectuées, il est important que l'instrument soit préparé, étalonné et conservé conformément aux instructions du fabricant.** Veuillez relire le manuel de préparation de l'instrument avant de lire les résultats de l'essai.
12. Il faut lire la plaque dans les 60 minutes qui suivent la fin de l'incubation du conjugué. Il est possible d'agiter la plaque 15 secondes environ avant de lire les résultats. Cette étape facultative peut permettre de diminuer le temps nécessaire à la lecture de la plaque.

Étape	Procédure d'essai abrégée
1	Diluer les échantillons 1:21 avec le diluant SAVe. Bien mélanger.
2	Mélanger dans un puits vide 50 µl de billes en suspension avec 10 µl d'échantillon dilué. Bien mélanger.
3	Incuber à température ambiante pendant 30 minutes (± 10 minutes).
4	Rincer les microsphères 3 fois avec 200 µl de tampon de lavage 1X.
5	Sécher délicatement le fond de la plaque et laisser sécher à l'air 3 à 5 minutes.
6	Ajouter 150 µl de conjugué dans chaque puits. Bien mélanger.
7	Transférer sur une plaque de réaction (facultatif).
8	Incuber à température ambiante pendant 30 minutes (± 10 minutes).
9	Agiter la plaque (facultatif).
10	Lire les résultats dans les 60 minutes.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Mise en garde : Les contrôles positif et négatif doivent surveiller l'échec substantiel des réactifs. Le contrôle positif ne garantit pas de précision à la valeur seuil du test.

1. Pour chaque série de dosage, il est nécessaire d'utiliser le contrôle négatif (dans le puits A1) et le contrôle positif (dans le puits B1).
2. La validité de l'épreuve est définie par la performance des contrôles positifs et du contrôle négatif. Ces critères sont automatiquement analysés avec la *technologie d'étalonnage intra-puits*.
   a. Le contrôle négatif et le contrôle positif doivent être négatifs sur les billes porteuses d'anticorps non spécifiques ou témoins.
   b. Le contrôle négatif doit être négatif pour tous les analytes inclus dans le test sur billes en suspension.
   c. Le contrôle positif doit être positif pour un groupe d'analytes prédéterminé compris dans la suspension de billes multiplexe. Chaque contrôle positif doit produire un résultat qualitatif positif de facteurs rhumatoïdes. Outre le résultat qualitatif, le contrôle positif doit se situer dans les plages prédéterminées d'activité. Ces intervalles sont codés sur le CD d'étalonnage.
   d. Si l'un des critères ci-dessus n'est pas rempli, l'épreuve tout entière sera considérée comme non valide et devra être recommencée. **Ne consignez pas les résultats du patient.**
3. La validité des échantillons repose sur les caractéristiques des billes d'étalonnage et leurs interactions avec les sérums du patient. Il existe divers paramètres qui sont automatiquement contrôlés avec la *technologie d'étalonnage intra-puits*. Si l'un des critères s'avérait ne pas correspondre aux spécifications, les résultats pour le patient seraient considérés comme non valides et l'épreuve devrait être recommencée. Le cas échéant, le rapport de données indiquera l'échantillon qui a été invalidé ainsi qu'un code de dépannage.
4. Des contrôles supplémentaires peuvent être testés conformément aux réglementations gouvernementales en vigueur et aux normes des organisations d'accréditation compétentes. Les contrôles externes doivent être représentatifs d'un sérum humain normal car le système d'étalonnage des tests **AtheNA Multi-Lyte** est partiellement basé sur les caractéristiques d'un échantillon de sérum. Si la formulation de l'échantillon est artificielle (pas du sérum humain), des résultats erronés sont possibles.

5. Les bonnes pratiques de laboratoire recommandent l'utilisation de contrôles positifs et négatifs afin de s'assurer de la fonctionnalité des réactifs et de la performance adéquate de la procédure de test. Les procédures de contrôle qualité doivent être effectuées conformément aux réglementations locales et /ou nationales, ou aux exigences de l'accréditation et des procédures de contrôle qualité standard du laboratoire de l'utilisateur. L'utilisateur doit consulter les recommandations EP12-A et 42 CFR 493.1256 du CLSI pour s'informer sur les pratiques de CQ appropriées.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

1. **Calculs**
   a. Étalonnage de l'essai : Le système de test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus utilise une *technologie d'étalonnage intra-puits*. La *technologie d'étalonnage intra-puits* utilise une courbe d'étalonnage multipoints standard dans la suspension de billes. Grâce à la *technologie d'étalonnage intra-puits*, chaque puits de l'essai est étalonné de l'intérieur sans aucune intervention de l'utilisateur. La courbe standard est conçue pour se régler automatiquement en fonction des caractéristiques propres au sérum du patient ou au sérum témoin. Les valeurs d'étalonnage sont attribuées aux étalons internes par ZEUS. Ces valeurs sont spécifiques pour chaque lot et sont codées sur le CD d'étalonnage accompagnant chaque lot.
   b. **Valeurs seuils d'analyte : Une valeur seuil a été assignée à chaque analyte du système de test ZEUS** AtheNA Multi-Lyte **RF IgM Plus. Les valeurs seuils sont déterminées par ZEUS pour chaque lot de tests et sont codées sur le CD d'étalonnage accompagnant chaque lot.**
   c. Grâce à la *technologie d'étalonnage intra-puits*, tous les calculs sont effectués automatiquement lors de l'utilisation du système AtheNA Multi-Lyte. **La *technologie d'étalonnage intra-puits* effectue une analyse de régression des étalons internes, puis règle les valeurs unitaires calculées en fonction des étalons supplémentaires et des caractéristiques de l'échantillon de sérum.**
2. Interprétations

   Les résultats du système de test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus peuvent être interprétés comme suit :

	Valeur unitaire
Échantillons négatifs	< 6 UI/ml
Échantillons positifs	≥ 6 UI/ml
Échantillons fortement positifs	≥ 25 UI/ml

LIMITES DU TEST

1. Le test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus vise à aider au diagnostic mais n'est pas un diagnostic en soi. Les résultats de test doivent être interprétés conjointement avec l'évaluation clinique et avec les résultats d'autres procédures de diagnostic.
2. Du fait de la nature homogène de ce test, les échantillons hémolytiques, ictériques et lipémiques peuvent interférer avec les résultats de cette analyse. Par ailleurs, des échantillons présentant des taux anormaux d'IgG peuvent interférer avec les résultats du test. Il faudra donc éviter d'utiliser de tels échantillons.
3. Un résultat négatif n'exclut pas la présence d'une polyarthrite rhumatoïde. Environ 25 % des patients ayant reçu un diagnostic d'arthrite rhumatoïde peuvent présenter un résultat négatif de facteur rhumatoïde.

RÉSULTATS ATTENDUS

148 échantillons ont été prélevés dans un groupe de donneurs de sang normaux. De ces 148 échantillons, 128/148 (86,5 %) ont produit un résultat négatif, 18/148 (12,2 %) ont produit un résultat positif et 2/148 (1,4 %) ont produit un résultat fortement positif. Parmi les échantillons cliniques (ceux de patients ayant reçu un diagnostic de polyarthrite rhumatoïde), 1/150 (0,7 %) a produit un résultat négatif, 149/150 (99,3 %) ont produit un résultat positif. Des 149 échantillons positifs, 12/149 (8 %) ont produit un résultat positif et 137/149 (92 %) ont produit un résultat fortement positif. Le système de test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus a été validé avec un étalon fourni par l'Organisation mondiale de la Santé (OMS). L'essai a été validé avec l'étalon OMS 64/2 possédant une valeur définie de 25 UI/ml. Lorsque l'étalon a été analysé avec le système de test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus, un résultat de 24,25 UI/ml a été obtenu.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

1. **Étude comparative**

   Une étude comparative interne a été réalisée afin de démontrer que le système de test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus est équivalent aux systèmes de test ELISA de détection de FR IgM disponibles sur le marché. Les performances ont été évaluées sur 450 échantillons ; 150 échantillons de sérums de donneurs normaux, 150 échantillons préalablement envoyés en laboratoire pour un test routinier de détection de facteurs rhumatoïdes et 150 échantillons de patients ayant reçu un diagnostic clinique de polyarthrite rhumatoïde. Les résultats de l'essai ont été résumés dans le tableau 1 ci-dessous.

Tableau 1 : Résultat de détection qualitative d'antigènes antinucléaires avec le système de test ZEUS AtheNA Multi-Lyte RF IgM Plus

		Résultats ELISA		
		Positif	Négatif	Total
Résultats AtheNA	Positif	308	11	319
	Négatif	0	129	129
	Total	308	140	448*

		Intervalle de confiance à 95 %
Sensibilité relative	100 %	98,21 – 99,99
Spécificité relative	92,1 %	86,38 – 96,01
Concordance relative	97,5 %	95,65 – 98,77

*REMARQUE : 450 échantillons avaient été originalement été inclus dans l'étude. Deux échantillons ont produit un résultat invalide avec le test AtheNA de détection de facteurs rhumatoïdes et ont donc été exclus du résumé ci-dessus.

Évaluation de la spécificité clinique du système de test ZEUS AtheNA Multi-Lyte RF IgM Plus :

La spécificité clinique du système de test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus a été évaluée avec 150 donneurs de sang normaux avec l'hypothèse que chaque groupe ne contenait aucun anticorps FR IgM. Dans ce groupe, 128/148 échantillons ont produit un résultat négatif pour l'anticorps FR IgM. La spécificité clinique du système de test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus a donc été établie à 86,5 %. Exprimée avec un intervalle de confiance à 95 %, la spécificité clinique a été évaluée à 0,799 - 0,916.

Évaluation de la sensibilité clinique du système de test ZEUS AtheNA Multi-Lyte RF IgM Plus :

La sensibilité clinique du système de test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus a été évaluée avec 150 échantillons caractérisés en environnement clinique (patients ayant reçu un diagnostic de polyarthrite rhumatoïde). Dans ce groupe, 149/150 échantillons ont produit un résultat positif pour l'anticorps FR IgM. La sensibilité clinique du système de test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus a donc été établie à 99,3 %. Exprimée avec un intervalle de confiance à 95 %, la spécificité clinique a été évaluée à 0,963 - 0,999.

2. **Reproductibilité**

   Une évaluation interne de la reproductibilité intra-essai et inter-essais a été effectuée. Six échantillons ont été testés. Chaque jour, chaque échantillon était dilué deux fois puis copié quatre fois, ce qui a donné un total de huit puits pour chacun des six échantillons. Ce protocole a été suivi pendant trois jours. Les résultats ont ensuite été utilisés pour calculer les valeurs moyennes UI/ml, les écarts types et le coefficient de variation (exprimé en pourcentage). Les échantillons ont été sélectionnés de façon à ce que deux d'entre eux soient clairement négatifs, deux clairement positifs et deux faiblement positifs. Les résultats sont résumés dans les tableaux 2 et 3 ci-dessous.

Tableau 2 : Résultats de précision du test ZEUS AtheNA Multi-Lyte RF IgM Plus

N° d'échantillon	Caractéristiques	Résultats du jour 1		Résultats du jour 2		Résultats du jour 3	
		Dilution 1	Dilution 2	Dilution 1	Dilution 2	Dilution 1	Dilution 2
1	Négatif	1	1	2	1	1	1
		1	1	1	2	1	1
		1	1	2	2	1	1
		1	1	1	1	1	1
2		1	1	4	1	1	1
		1	1	1	2	1	1
		1	1	2	2	1	1
		1	1	1	2	1	1
3	Fortement positif	226	197	193	185	209	219
		200	204	230	214	226	211
		224	226	196	202	217	213
		207	217	192	218	220	203
4		163	166	172	1744	162	158
		163	145	198	160	144	158
		152	162	191	174	165	151
		146	160	167	175	154	157
5	Positif	9	8	9	9	11	9
		9	8	8	9	10	8
		10	11	9	9	10	10
		9	8	10	10	10	9
6		8	8	10	9	10	9
		10	9	8	7	9	9
		8	8	10	7	11	10
		10	9	9	8	9	8

Tableau 3 : Résumé des essais de précision du test ZEUS AtheNA Multi-Lyte RF IgM Plus

N° d'échantillon	Calculs	Précision inter-essais			Précision inter-essais
		Jour 1	Jour 2	Jour 3	
1	Moyenne	1	2	1	1
	ET	0	0,534522	0	0,38069
	CV (%)	0	35,6	0	32,6
2	Moyenne	1	2	1	1
	ET	0	0,991031	0	0,69025
	CV (%)	0	52,9	0	53,4
3	Moyenne	213	204	215	210
	ET	12,04678	15,42493	7,225945	12,49630
	CV (%)	5,7	7,6	3,4	5,9
4	Moyenne	157	176	156	163
	ET	8,253787	12,36282	6,53425	13,07164
	CV (%)	5,3	7,0	4,2	8,0
5	Moyenne	9	9	10	9
	ET	1,069045	0,64087	0,916125	0,89685
	CV (%)	11,9	7,0	9,5	9,7
6	Moyenne	9	9	9	9
	ET	0,886405	1,195229	0,916125	1,03472
	CV (%)	10,1	14,1	9,8	11,7

3. **Réactivité croisée et substances interférentes**

Le système de test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus a été évalué pour une éventuelle réactivité croisée à d'autres anticorps et l'interférence de composants présents dans le sérum. Pour cet essai, 38 échantillons au total ont été évalués. Dix-huit échantillons confirmés positifs à divers anticorps de maladies infectieuses et auto-immunes ont été testés avec le système ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus. Des 18 échantillons évalués, deux se sont avérés réactifs au système de test ZEUS AtheNA Multi-Lyte RF IgM Plus. Un de ces deux échantillons a aussi produit un résultat réactif au test ELISA de détection de facteurs rhumatoïdes IgM. Au total, 20 échantillons contenant des substances potentiellement interférentes ont été évalués. Ces 20 échantillons présentaient soit des taux d'hémolyse anormaux (n = 5), soit des taux de bilirubine anormaux (n = 5), soit une concentration en IgG au-dessus de la normale (n = 5), soit des taux de lipides au-dessus de la normale (n = 5). Quatre des échantillons se sont avérés faiblement positifs au système de test ZEUS AtheNA Multi-Lyte RF IgM Plus. Un des quatre échantillons a aussi produit un résultat positif au test ELISA de détection de facteurs rhumatoïdes IgM.

RÉFÉRENCES

1. Turgeon, M.L.: Rheumatoid Arthritis. In: Immunology and Serology in Laboratory Medicine, 2nd Ed. Shanahan, J., ed. Mosby Year Book Inc., St.Louis, MO, Ch.28,pp:387-398. 1996.
2. Wilske, K., Yocum, D.: Rheumatoid Arthritis: The Status and Future of Combination Therapy. J. of Rheumatol. Vol 23 (suppl 44):1. 1996.
3. Jackson, G.: Immunodeficiences and Autoimmune Disorders, In: Clinical Laboratory Medicine, Tilton, R. et. al. Eds. Mosby Year Book Inc., St. Louis, MO, Ch.36,pp:485-504. 1992.
4. Richardson, C., Emery, P. Laboratory Markers of Disease Activity. J. of Rheumatol. Vol 23(suppl 44),pp:23-30. 1996.
5. Zuraw, B., et.al. Immunoglobulin E-Rheumatoid Factor in the Serum of Patients with RA, Asthma, and Other Diseases, J. Clin. Invest., (68),1610. 1981.
6. Wolfe, F. The Natural History of Rheumatoid Arthritis. J. of Rheumatol. Vol.23(suppl 44):13-22. 1996.
7. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture - Second edition: Approved Standard (1984). Published by National Committee for Clinical Laboratory Standards.

8. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens. NCCLS Document H18-A, Vol. 10, No. 12, Approved Guideline, 1990.
9. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration: Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule. Fed. Register 56:64175-64182, 1991.
10. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guidelines – 4th Edition (2010). CLSI Document GP44-A4 (ISBN 1-56238-724-3). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087.

ZEUS Scientific, Inc.
200 Evans Way, Branchburg, New Jersey, 08876, USA
Appel gratuit (É-U) : 1-800-286-2111, Option 2
International : +1 908-526-3744
Fax: +1 908-526-2058
Site Web: www.zeusscientific.com
AtheNA Multi-Lyte et SAVe Diluent® sont des marques de commerce de ZEUS Scientific, Inc.

Service clients aux États-Unis : contactez votre distributeur local.
Assistance technique aux États-Unis : contactez ZEUS Scientific ; appelez pi écrivez à support@zeusscientific.com.
Service clients et assistance technique hors des États-Unis : contactez votre distributeur local.

© 2015 ZEUS Scientific, Inc. Tous droits réservés.

EC REP
EMERGO EUROPE
Molenstraat 15
2513 BH, The Hague
The Netherlands
Tel: +31 (0)70 345 8570
Fax: +31 (0)70 346 7299